

*Prosiding Seminar Nasional
Pengembangan Teknologi Pertanian
Politeknik Negeri Lampung 24 Mei 2014
ISBN 978-602-70530-0-7 halaman 577-584*

Karakteristik Kimiawi Rumput Laut Lokal (*Caulerpa* sp.) Dan Potensinya Sebagai Sumber Antioksidan

Chemical Characteristics of Local Seaweed (*Caulerpa* sp.) And Its potential as a Source of Antioxidants

Nuning Mahmudah Noordan Juli Nursandi

*Jurusan Budidaya Perikanan, Politeknik Negeri Lampung
Email: nuningmahmudah@gmail.com*

ABSTRACT

*Lampung coast has an abundant aquatic flora and fauna. One of them is green seaweed *Caulerpa* sp. that commonly known as seagrass. It was dispersed in Ringgung, Kelapa Rapat, and Kota Agung seashore. The people ate seagrass dairy only in fresh form as vegetable called lalapan and rujak. This research aim for identifying the chemical compound of *Caulerpa* sp. and screening it's potential antioxidant compound. The variable of research are the differences of extraction solvent (methanol, ethylacetate and hexane) and kind of sample (fresh and dried seaweed). The observation are yield, proximate characteristic, phytochemical and antioxidant analysis. Data analysed by using ANOVA with Minitab 14.0 statistical apparatus. The *Caulerpa* sp extract has a potential antioxidant compound that able to scavenging free radical 1,1-diphenyl-2-picryl hydrazil picrilhydrazine (DPPH). The phytochemical analysis identified the extract of *Caulerpa* sp containing alkaloid, fenolic, triterpenoid, and flavonoid compound.*

*Keywords: green seaweed, *Caulerpa* sp., antioxidant*

Diterima: 18 Mei 2014, disetujui: 23 Mei 2014

PENDAHULUAN

Eksplorasi senyawa bioaktif dari lingkungan laut banyak dilakukan karena memiliki struktur kimiawi unik yang tidak ditemukan pada lingkungan terestrial. Secara umum terakumulasi pada biota laut yang bersifat *non-mobile* yakni dari golongan invertebrata dan tumbuhan laut (Jadulco, 2002). Beberapa penelitian telah mengeksplorasi senyawa bioaktif dari lingkungan laut, seperti agen antitumor (Munro *et al.*, 1999; Proksch *et al.*, 2003), antivirus (Rinehart, *et al.* 1993; Jha and Zi-rong, 2004), dan antibiotik (Schmitz *et al.*, 1993; Widjhati *et al.*, 2004) serta antioksidan (Noor, 2009). Salah satu biota dari laut yang memiliki kandungan senyawa bioaktif potensial adalah alga atau rumput laut.

Rumput laut hidup di dasar perairan dengan topografi yang tidak begitu keras, tempat terlindung dari arus dan ombak yang kuat dan di area tersebut masih tergenang air pada pasang surut. Potensi rumput laut Indonesia cukup besar dan tersebar hampir diseluruh perairan nusantara diantaranya adalah perairan pantai barat Sumatera, Lampung, Maluku, Kepulauan Seribu, Bangka, Belitung, pantai barat dan selatan Jawa, Kepulauan Karimunjawa, Madura, Bali dan NTB (Atmadja, 1991).

Manfaat dari rumput laut sangat beraneka ragam antara lain dapat mengobati atau mencegah kanker, membantu menurunkan kadar kolesterol dan dapat berfungsi membuang zat-zat beracun dalam tubuh. Rumput laut dapat dijadikan sebagai sumber gizi karena pada umumnya mengandung karbohidrat, protein dan sedikit lemak. Selain itu rumput laut mengandung Vitamin A, B1, B2, B6 dan B12 dan Vitamin C serta mengandung mineral seperti fosfor, kalium, natrium, dan besi (Hambali, 2004).

Salah satu komoditas rumput laut yang potensial adalah *Caulerpa* sp., spesies ini umum dikenal dengan sebutan anggur laut (*sea grape*), banyak tersebar di perairan Indonesia. Saat ini cara memperolehnya hanya berdasarkan pada hasil ekstraktif atau hanya mengumpulkan secara langsung dari pinggir pantai. Sehingga sangat potensial untuk dikembangkan dan dibudidayakan.

Potensi rumput laut hijau ini di teluk Lampung berdasarkan survei lapangan yang kami lakukan sangat besar, terutama di sekitar Pantai Mutun, Pantai kelapa Rapat dan Kota Agung. Masyarakat hanya perlu mengumpulkan dari pantai dimana rumput laut ini banyak tumbuh. Sehingga melalui penelitian ini kami bermaksud mengkaji manfaat rumput laut *Caulerpa* sp. untuk aplikasi antioksidan.

Pigmen merupakan zat warna yang selama ini memang telah banyak dilaporkan memiliki aktifitas biologis seperti: antibakteri, antioksidan, antikanker, antifungal, dan lainnya. Hanya saja belum ada penelitian yang mengkaji mengenai aplikasi dari pigmen alga hijau ini untuk aplikasi antioksidan yang dapat digunakan sebagai suplemen dalam mengurangi bahaya radikal bebas yang terpapar ke dalam tubuh.

Salah satu rumput laut potensial dan belum dimanfaatkan secara optimal adalah rumput laut hijau *Caulerpa* sp yang potensinya banyak terdapat di Teluk Lampung. Berdasarkan penelitian, kandungan kimia *Caulerpa* sp adalah *caulerpine*, *0-sitosterol*, *asam palmitat*, *siklotetradekana* dan dua senyawa lain yang diduga sebagai steroid dan hidrokarbon tidak jenuh. Senyawa tersebut disenyailir banyak memiliki fungsi sebagai antibiotik dan antioksidan (Widjhati *et al*, 2004; Prakash, 2001).

Maka dari itu kami bermaksud melakukan kajian mengenai metode isolasi zat aktif yang terdapat pada *Caulerpa* sp. asal Teluk Lampung serta aplikasinya untuk penyedia senyawa antioksidan alami.

Melakukan pengamatan kimiawi pada *Caulerpa* sp dan kandungan bahan aktifnya secara fitokimiawi serta menganalisis potensi senyawa antioksidan dari ekstrak aktif *Caulerpa* sp. asal Teluk Lampung.

METODE

Penelitian inidilakukan di Laboratorium Kualitas Air dan Lingkungan Perairan dan Laboratorium Analisis Politeknik Negeri Lampung pada Bulan Mei hingga Oktober 2013. Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Caulerpa* sp. yang diambil dari Teluk Lampung, *n-hexane*, *ethyl-acetate*, *aquadest*, *methanol*, *1,1-diphenyl-2-pycryl hydrazil*(DPPH), vitamin C, *buthyl hyroxy toluene* (BHT). Peralatan yang digunakan timbangan, blender, gelas ukur, beaker glass 1000 ml dan

500 ml, spatula, bola hisap, lemari asam, pipet volume, *mikropipet*, erlenmeyer, corong, *rotary evaporator*, serta spektrofotometer

Penelitian ini menggunakan gabungan antara metode survei dan metode eksperimental. Metode survei dilakukan ketika *sampling* rumput laut *Caulerpa* sp. yang dipilih dari daerah Pantai Ringgung. Dalam tahap ini dilakukan wawancara dengan nelayan setempat perihal *spot* (posisi) *Caulerpasp.* perairan serta pemanfaatan yang dilakukan oleh masyarakat sekitar. Sementara penelitian eksperimental dilakukan di laboratorium terkait perlakuan ekstraksi bahan aktif dan analisis kimiawi.

Rancangan penelitian yang digunakan adalah Rancangan Acak Lengkap Faktorial, terdiri dari dua faktor yaitu jenis sampel (S) sampel kering dan basah, serta perlakuan perbedan pelarut (P) yakni *hexane*, *ethyl-acetat* dan *aquadest*. Variabel bebas penelitian adalah perbedaan jenis pelarut dan jenis sampel, sedangkan variabel terikatnya adalah: analisis proksimat, nilai rendemen bahan aktif, analisis proksimat, analisis fitokimia, dan analisis antioksidan. Data yang diperoleh kemudian dianalisis dengan keragamannya *analysis of variance* menggunakan alat bantu Minitab 14.0.

Rumput laut *Caulerpa* sp diambil dari perairan Teluk Lampung (Pantai Ringgung). Sebelum ekstraksi *Caulerpa* sp terlebih dahulu dicuci dengan menggunakan air untuk membersihkan dari garam dan parasit yang menempel. Kemudian dikering-anginkan dan dihaluskan menggunakan *blender*. Pasta rumput laut kemudian dimaserasi dengan pelarut (*n-hexan*, *etyl-acetate* dan *methanol*) selama 60 menit dan diambil filtratnya dengan penyaringan dan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak kasar *Caulerpa* sp.

Proses ekstraksi dimulai dengan merendam bahan dengan pelarut (selama dua jam) dengan perbandingan larutan dan pelarut (1:2) kemudian distirer selama 12 jam dan dilakukan sonikasi selama 25 menit, dengan tujuan untuk mengekstrak bahan aktif intraseluler. Campuran dipisahkan dengan media dan sel mikroba menggunakan labu pisah, dilanjutkan dengan pemisahan bahan aktif dengan pelarut menggunakan *rotatory evaporator* sampai ekstrak menjadi kering.

Analisis kimiawi berupa kadar air menggunakan metode *thermogravimetry*, kadar protein total menggunakan metode Kjeldhal, kadar abu dengan menggunakan *muffle*, kadar lemak metode *goldfish* Sudarmadji *et al*, (1996). Analisis karbohidrat total menggunakan metode spektrofotometri visible. Metode ini dilakukan dengan menghidrolisis cuplikan menggunakan asam klorida, baru kemudian direaksikan dengan pereaksi antron-asam sulfat. Pengamatan ini dimulai dengan membuat kurva kalibrasi glukosa dengan pembacaan menggunakan spektrofotometer pada panjang gelombang 585 nm. Kadar karbohidrat total direpresentasikan oleh kadar glukosa dalam cuplikan (Sadavim dan Manickam, 1996).

Analisis Fitokimia (Harborne, 1987).

Steroid/ Triterpenoid, sebanyak 1 ml larutan ekstrak diuapkan sampai kering, kemudian ditambah dengan pereaksi Lieberman - Burchard. Warna biru-ungu yang timbul menunjukkan adanya senyawa terpenoid atau steroid. **Alkaloid**, larutan diekstrak sebanyak 3 ml ditambah dengan 1 ml HCl 2 N, dan 6 ml air suling, kemudian dipanaskan selama 2 menit, dinginkan kemudian disaring. Filtrat diperiksa adanya senyawa alkaloid dengan pereaksi Dragendorff, Bouchardat dan Mayer. **Flavonoid**, larutan ekstrak sebanyak 2 ml ditambah dengan sedikit serbuk seng atau magnesium dan 2 ml HCl 2N. Senyawa flavonoid akan menimbulkan warna jingga sampai merah. **Antrakuinon**, larutan ekstrak sebanyak 2 ml dipanaskan dengan 5 ml H₂SO₄ selama 1 menit. Setelah dingin dikocok dengan 10 ml bensen. Warna kuning pada lapisan bensen menunjukkan adanya senyawa antrakuinon. Identifikasi

dapat diperjelas dengan menambahkan larutan natrium hidroksida konsentrasi 2N, akan terjadi warna merah pada lapisan air.

Analisis antioksidan

Pengujian aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan radikal DPPH (Blois, 1958). Bahan aktif yang diperoleh dilarutkan dalam metanol dengan berbagai konsentrasi (10, 25, 50, 75, 100 ppm). Pengujian dilakukan dengan menggunakan analisis sumuran. Sebanyak 160 µl bahan aktif dimasukkan ke dalam sumuran ditambahkan 40 µl larutan DPPH 1mM dalam metanol, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 30 menit, selanjutnya serapannya diukur pada panjang gelombang 515 nm.

Kontrol negatif digunakan MeOH, sedangkan kontrol media digunakan 160 µl metanol ditambahkan 40 µl DPPH, kontrol sampel yaitu 160 µl ekstrak bahan aktif ditambahkan 40 µl MeOH dengan konsentrasi sesuai dengan perlakuan, sebagai kontrol positif digunakan asam askorbat. Nilai IC₅₀ dihitung dengan menggunakan persamaan :

$$\text{Rumus \% inhibisi} = \frac{[(c - d) - (a - b)]}{(c - d)} \times 100\%$$

Keterangan:

A = 160 mikrolit sampel + 40 mikrolit DPPH (sampel perlakuan)

B = 160 mikrolit sampel + 40 mikrolit metanol (kontrol sampel)

C = 160 mikrolit metanol + 40 mikrolit DPPH (kontrol media)

D = 200 mikrolit metanol (kontrol negatif)

HASIL DAN PEMBAHASAN

Karakteristik *Caulerpa* sp.

Caulerpa sp. merupakan alga hijau yang belum banyak dimanfaatkan dan termasuk dalam *feather seaweed/ edible seaweed* (rumput laut yang dapat dimakan). Habitat rumput laut *Caulerpa* sp. terdapat di zona subtidal bagian bawah, tumbuh menjalar di sela-sela bebatuan atau lamun dengan cara melekat pada substrat pasir atau pecahan batu karang, memiliki *thalus* lunak menyerupai tulang rawan, berwarna hijau muda, tumbuh di sela-sela batu karang, *thalus* melekat pada substrat dengan *holdfast* serabut; *thalus* dapat tumbuh menjalar panjang, diameter mencapai 0,5 mm; tingginya mencapai tinggi 15 cm menyerupai anggur atau silindris atau pipih, ramuli sedikit atau rapat dan tersusun *radial*, *alternate*, *pinnate* atau tidak teratur pada *thalus* tegak (Anonymous, 2010b). Sampai saat ini rumput laut ini dipercaya memiliki manfaat sebagai bahan anestesi (*caulerpin*), obat antijamur, dan tekanan darah rendah (Trono and Ganzon-Fortes, 1988).

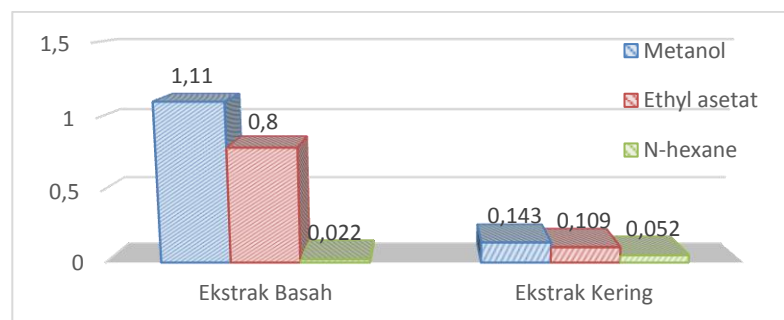


Gambar 1. Teluk Lampung dan *Caulerpa* sp

Di Teluk Lampung rumput laut ini masih belum dibudidayakan karena kurangnya informasi dan teknologi budidaya serta pasar. Masyarakat hanya menggunakan sebagai tambahan makanan harian seperti rujak, lalapan maupun ditambahkan dalam menu makanan khas Lampung yaitu seruit. *Caulerpa* sp. merupakan salah satu jenis alga yang mengandung substansi toksin. Collins (1978), menyatakan zat caulerpin dan caulerpin dapat diisolasi dari alga laut antara lain *Caulerpa racemosa*, *Caulerpa sertularioides* dan *Caulerpa lentifera*. Jika rumput laut ini mengalami luka akan mengeluarkan warna jingga dan kemudian akan timbul tonjolan-tonjolan sehingga menyebabkan degenerasi dari bagian yang terluka karena adanya caulerpin pada sekitar luka tersebut.

Sampel *Caulerpa* sp. yang diperoleh dari Teluk Lampung (Pantai Ringgung) setelah dikeringkan ternyata menghasilkan berat kering sebesar 8%. Sedangkan nilai rendemen ekstrak dari masing-masing pelarut (Gambar 2) menunjukkan bahwa rendemen ekstrak dari bahan baku basa lebih tinggi secara signifikan ($P > 0,05$) dari pada rendemen dari sampel kering.

Rendemen tertinggi terdapat pada rendemen sengan pelarut metanol, disusul dengan pelarut etil asetat dan pelarut heksan. Hal ini dikarenakan rumput laut banyak mengandung senyawa fonolik dan alkoholik sehingga mudah terlarut dengan etanol. Sementara senyawa yang terlarut pada pelarut polar cenderung lebih rendah, walaupun demikian senyawa yang dihasilkan dari pelarut polar biasanya cenderung lebih memiliki aktifitas metabolik yang lebih tinggi.



Gambar2.Rendemenekstrak*Caulerpa* sp.

Nilai rendemen penting karena terkait dengan jumlah bahan yang dihasilkan. Semakin banyak rendemen suatu bahan aktif maka akan semakin baik dan akan semakin mudah menjadi sebagai bahan baku dalam analisis selanjutnya.

Analisis proksimat dilakukan untuk mengetahui kandungan gizi dari *Caulerpa* sp. Dari Teluk Lampung. Analisis ini dilakukan di Laboratorium Pakan dan Nutrisi Ternak Fakultas Pertanian Unila (Tabel 1).

Tabel 1. Analisis proksimat *Caulerpa* sp.

Analisis	Segar	Kering
Kadar protein (%)	0,75	10,08
Kadar lemak (%)	0,78	10,39
Kadar air (%)	92,52	7,48
Kadar abu (%)	3,69	49,37
Serat kasar (%)	0,99	13,3
BETN	1,26	16,86

Komposisi kimia *Caulerpa* sp. menunjukkan bahwa sebagai nabesarkomposisi rumput laut ini merupakan air (92,52%), diikuti kadar serat yakni sebesar 18,9% dan lemak dan protein. Tingginya kadar air ini dikarenakan rumput laut memang secara fisiologis banyak mengandung air dan antara sel penyusun tubuhnya (*thallus*) banyak menyimpan air. Sementara tingginya kadar karbohidrat ini disebabkan karena penyusun utama rumput laut adalah karagenan, alginat, agarose dan lain sebagainya yang merupakan senyawa karbohidrat.

Hasil penelitian secara kualitatif terhadap ekstrak dari rumput laut *Caulerpa* sp. (Tabel 2) menunjukkan bahwa ekstrak tersebut mengandung senyawa alkaloid, fenolik, flavonoid dan triterpenoid, dengan tingkat yang berbeda. Sehingga ke depan perlu dilakukan kuantifikasi dari senyawa tersebut yang dikandung *Caulerpa* sp.

Tabel 2. Analisis fitokimia ekstrak *Caulerpa* sp.

Golongan Senyawa	Keterangan
Alkaloid	++
Fenolik	++++
Flavonoid	++++
Triterpenoid	+

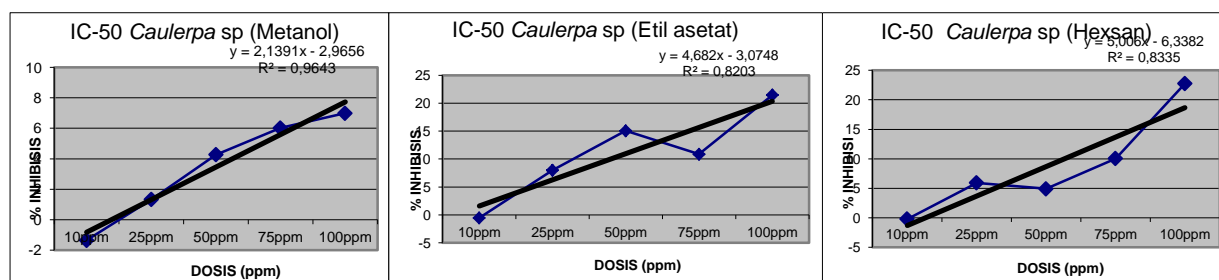
Ket.: + = positif lemah, ++ = positif,

+++ = positif kuat, ++++ = positif sangat kuat

Senyawa alkaloid, fenolik dan flavonoid telah banyak dilaporkan memiliki aktifitas antioksidan, sebagaimana yang telah diekstrak dari rumput laut merah (*Sargassum* sp), rumput laut cokelat (*Eucheuma cottonii*) bahkan dari ekstrak daun, buah dan kulit mangrove (*Avicennia*, *Rhizophora*) dan lain sebagainya. Senyawa antioksidan alami tumbuhan umumnya adalah senyawa fenolik atau polifenolik yang dapat berupa golongan *flavonoid*, turunan asam sinamat, *kumarin*, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional. Golongan *flavonoid* yang memiliki aktivitas antioksidan meliputi flavon, flavonol, isoflavon, kateksin, *flavonol* dan kalkon. Sementara turunan asam sinamat meliputi asam kafeat, asam ferulat, asam klorogenat (Pratt, 1992).

Aktifitas Antioksidan dari Ekstrak *Caulerpa* sp.

Aktifitas antioksidan dari ekstrak *Caulerpa* sp. dari masing-masing pelarut ternyata memiliki prosentase inhibisi terhadap radikal bebas DPPH yang berbeda (Gambar 3). Nilai tertinggi terdapat pada ekstrak dari pelarut heksan, diikuti oleh etil asetat dan pelarut etanol. Tingginya nilai ini dikarenakan senyawa yang dapat larut pada masing-masing pelarut berbeda-beda tergantung dari sifat pelarut itu sendiri yang memiliki kemampuan yang berbeda-beda dalam menangkap radikal bebas semakin banyak mengandung senyawa aktif maka radikal bebas yang ada di dalam tubuh (yang dalam hal ini direpresentasikan oleh DPPH) akan semakin besar.



Gambar 3. Inhibisi ekstrak aktif *Caulerpa* sp. pada radikal DPPH

Radikal bebas dapat menjadi bahaya ketika di dalam tubuh dan berikatan dengan bagian tubuh manusia melalui proses yang disebut oksidasi. Senyawa antioksidan telah diketahui menekan laju oksidasi di dalam tubuh dengan cara mengikat ujung aktif pada radikal bebas. Antioksidan alami di dalam makanan dapat berasal dari (a) senyawa antioksidan yang sudah ada dari satu atau dua komponen makanan, (b) senyawa antioksidan yang terbentuk dari reaksi-reaksi selama proses pengolahan, (c) senyawa antioksidan yang diisolasi dari sumber alami dan ditambahkan ke makanan sebagai bahan tambahan pangan (Kumalaningsih, 2007).

KESIMPULAN

Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak *Caulerpa* sp. mengandung senyawa alkaloid, fenolik, triterpenoid, dan flavonoid yang berpotensi sebagai antioksidan karena dapat mengikat radikal bebas.

DAFTAR PUSTAKA

- Anonymous. 2010. *Makanan rumput laut*. <http://www.afzan.blog.com>. Diakses Tanggal 01 September 2013
- Atmadja. 1991. *Rumput laut: Budi daya, pengolahan dan pemasaran*. Penebar Swadaya. Jakarta
- Blois, MS. 1958. *Antioxidant determination by the use of stable free radical*. Nature. Vol. 181. 1199-1200p
- Collins. 1978. *Mikrobiologi Dasar*. Penerbit Erlangga. Jakarta
- Hambali, E. 2004. *Membuat aneka olahan rumput laut*. Penebar Swadaya. Jakarta
- Harborne, JB. 1987. *Metode fitokimia: Penuntun cara modern menganalisis tumbuhan*. Penerjemah: K. Padmawinata dan I. Soediro. Penerbit ITB. Bandung
- Jadulco, RC. 2002. *Isolation and structure elucidation of bioactive secondary metabolites from marine sponges and sponges derived-fungi*. Dissertation zur Erlangung des Naturwissenschaftlichen Doctorgrades. Universitat Wurzburg. 1-5p
- Jha, RK. and Zi-rong, X. 2004. *Biomedical compounds from marine organism*. Marine Drugs, 2: 123–146p.
- Kumalaningsih, S. 2007. *Antioksidan alami penangkal radikal bebas*. Cetakan kedua. Trubus Agrisarana. Surabaya. Hal: 3-14
- Munro, MHG., Blunt, JW., Dumdei, EJ., Hickford, SJH., Lill, RE., Li, S., Battershill, CN. and Duckworth, AR. 1999. *The discovery and development of marine compound with pharmaceutical potential*. Journal of Biotechnology, 70 : 14-25p.
- Noor, NM. 2009. Optimasi produksi senyawa aktif dari mikroba yang berasosiasi dengan spons laut dan uji bioaktivitasnya sebagai antibakteri dan antioksidan. Tesis. Unpublish. Fakultas Perikanan dan Ilmu Kelautan Universitas Brawijaya, Malang

- Pratt, DE. 1992. *Natural antioxidant from plant material* in Huang, MT; CT, Ho and CY Lee (eds). *Phenolic compound inhibitor trypsin food and their effects on health II*. ACS. Washington DC. 54-71pp.
- Prakash, A. 2001. *Antioxidant activity*. Medallion Laboratories. Vol. 19 No. 2. Minneapolis
- Proksch, P. Edrada-Ebel, RA., and Ebel, R. 2003. *Drugs from the sea: opportunities and obstacles*. Marine Drugs, 1 : 5 – 17.
- Rinehart, KL., Shield, LS., Parson, MC. 1993. *Antiviral substances* in Attaway, DH., Zaborsky, OR. (Eds). *Marine biotechnology*. Vol. I, Pharmaceutical and Bioactive Natural Products. Plenum Press. New York. 309-342p.
- Sadasivam, S., and A. Manickam. 1996. *Biochemical methods*. New Age International. New Delhi
- Schmitz, FJ., Bowden, BF., and SI., Toth. 1993. *Antitumor and cytotoxic compounds from marine organisms*. in Attaway, DH., Zaborsky, OR. (Eds). *Marine Biotechnology*. Vol. I, Pharmaceutical and Bioactive Natural Product. Plenum Press. New York. 197-308p.
- Sudarmadji S., B. Haryono dan Suhardi. 1996. *Prosedur analisa untuk bahan makanan dan pertanian*. Liberty. Yogyakarta
- Trono, GC and Ganzon-Fortes, ET. 1988. *Philippine Seaweed*. Manila: National Book Store 2
- Widjhati, R., Supriyono, A. dan Subintoro. 2004. *Pengembangan senyawa bioaktif dari biota laut*. Makalah pada Forum Bioteknologi Kelautan dan Perikanan, Pusat Riset Pengolahan Produk dan Sosial Ekonomi Kelautan dan Perikanan, Depertemen Kelautan dan Perikanan. Jakarta Tanggal 25 Maret 2004. 13 hal.